

PROSES HIDROLISIS ASAM DAN ENZIM PADA POLISAKARIDA *Euchema cottonii* UNTUK BAHAN BAKU BIOETANOL

ENZYMATIC AND ACID HYDROLYSIS OF THE *Euchema cottonii* POLYSACCHARIDES FOR THE SUBSTRATE OF BIOETHANOL PRODUCTION

Pandit Hernowo^{1)*}, Dwi Setyaningsih^{2,3)}, dan Bagus Sediadi Bandol Utomo⁴⁾

¹⁾Program Studi Teknik Kimia-Institut Sains dan Teknologi Al-Kamal
Jl. Raya Al-Kamal No.2, Kedoya, Jakarta Barat, Indonesia 11520
Email:pan_hernowo@yahoo.com

²⁾Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor

³⁾Pusat Penelitian Surfaktan dan Bioenergi (SBRC), LPPM, IPB, Bogor

⁴⁾Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan-Jakarta

Makalah: Diterima 17 April 2013; Diperbaiki 24 Maret 2014; Disetujui 20 Mei 2014

ABSTRACT

Indonesia is the second largest exporter of seaweed in the world. It has a promising availability and capacity of producing bioethanol from seaweed. *Euchema cottonii* is abundantly available in the Indonesian sea which contains high carbohydrate concentration for bioethanol production. This research studied the effect of sulfuric acid concentration for hydrolysis at 121°C and the concentration of cellulase enzyme at different reaction time. The results showed that the best treatment was 1% (v/v) sulfuric acid hydrolysis for 60 min and enzymatic hydrolysis of 5% (v/v) for 12 hours. The reducing sugar content was 5.06% w/v, ethanol yield was 0,55% b/v and fermentation efficiency was 23.47%.

Keywords: *E. cottonii*, acid hydrolysis, enzymatic hydrolysis, bioethanol

ABSTRAK

Indonesia sebagai negara pengekspor rumput laut terbesar kedua di dunia, sehingga sangat menjanjikan jika digunakan untuk produksi bioetanol. *Euchema cottonii* tersebar luas di laut Indonesia dengan kandungan karbohidrat yang besar yang dapat dieksploitasi lebih lanjut untuk produksi bioetanol. Penelitian ini mengamati pengaruh hidrolisis dengan berbagai konsentrasi asam sulfat pada suhu 121°C dan konsentrasi enzim selulase pada waktu hidrolisis yang berbeda terhadap rumput laut. *E. cottonii*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi terbaik hidrolisis enzim yaitu pada konsentrasi enzim selulase 5% v/v selama 12 jam pada hidrolisat asam sulfat 1% v/v selama 60 menit dengan kadar gula pereduksi 5,06% b/v, dan kadar etanol yang dihasilkan sebesar 0,55% b/v dan efisiensi fermentasi 23,47%.

Kata kunci : *E. cottonii*, hidrolisis asam sulfat, hidrolisis enzim selulase, bioetanol

PENDAHULUAN

Bioetanol adalah bahan bakar nabati yang berbentuk cair sehingga penggunaannya sangat fleksibel dan menyerupai bensin. Pemanfaatan rumput laut sebagai bahan baku bioetanol memiliki beberapa keuntungan dibandingkan sumber bahan baku lainnya, antara lain : (a) memiliki produktifitas yang tinggi dan waktu panen yang singkat, (b) pemanfaatan lahan tidak bersaing dengan lahan permukiman, industri atau lahan produktif pertanian dan perkebunan, (c) menghasilkan bioetanol dan produk samping yang bernilai sebagai pupuk organik. (d) kandungan lignin yang rendah. (e) kandungan gula yang tinggi (Meinita *et al.*, 2012) (f) dapat mendaur ulang emisi CO₂ (Roesijadi *et al.*, 2010). Rumput laut merupakan bahan baku berbasis karbohidrat, pemanfaatannya sampai saat ini adalah untuk pangan masyarakat dan industri farmasi. Dengan potensi lahan yang cukup besar khusus untuk budidaya rumput laut seluas 769.452

ha (Master Plan Program Pengembangan Kawasan Budidaya Laut-Ditjen Perikanan Budidaya tahun 2006) diharapkan tidak mengganggu sektor pangan dan industri farmasi.

Kandungan polisakarida *E. cottonii* yang cukup tinggi menjadikannya sebagai salah satu bahan baku bioetanol yang menjanjikan. Fraksi karbohidrat dari *E. cottonii* dapat diubah menjadi gula melalui hidrolisis asam, hidrolisis asam-enzim, atau pun hidrolisis enzim. Hidrolisis lengkap dari polisakarida akan menghasilkan monosakarida yang digunakan sebagai substrat pada proses fermentasi bioetanol. Tujuan dari penelitian ini yakni untuk mengetahui waktu dan konsentrasi hidrolisis asam dan enzim untuk memecah polisakarida *E. cottonii* menjadi gula pereduksi tertinggi dan dilanjutkan dengan fermentasi untuk mengetahui konversi substrat menjadi bioetanol. Pemilihan kondisi optimum hidrolisis sangat penting dilakukan, agar didapatkan rendemen gula maksimum dan

*Penulis untuk korespondensi

pembentukan senyawa inhibitor minimal yang dapat mengganggu kondisi fermentasi.

BAHAN DAN ALAT

Bahan dan Alat

E. cottonii

E. cottonii yang digunakan dalam penelitian didapatkan dari perairan Cilegon, Banten. Rumput laut *E. cottonii* dibersihkan dari kotoran dan garam yang terserap dengan cara direndam selama 3 hari dalam air, dilanjutkan dengan pencucian, pencacahan dengan ukuran 3-5 cm, dan dikeringkan dibawah sinar matahari selama 3 hari. Rumput laut kering kemudian digiling menjadi tepung (80 mesh).

Hidrolisis Asam

Proses hidrolisis dilakukan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 1-1,5 bar. Bahan baku dicampur dengan larutan asam sulfat di dalam botol sampel dengan volume total 100 mL dan berat tepung *E. cottonii* sebanyak 10 gram. Hidrolisis asam dilakukan dengan perlakuan konsentrasi asam sulfat encer yaitu 0%, 1%, 2%, dan 3% (v/v) serta perlakuan waktu yaitu 15, 30, 45, dan 60 menit. Hasil hidrolisis dianalisis kadar gula pereduksi (DNS), gula total (Dubois), derajat polimerisasi (perbandingan gula total dan gula pereduksi), dan total padatan. Percobaan seluruh parameter dilakukan menggunakan model Rancangan Acak Lengkap dan dilanjutkan dengan uji Duncan untuk menentukan pengaruh perlakuan terhadap parameter dan kondisi terbaik hidrolisis.

Hidrolisis Enzim

Proses hidrolisis enzim dilakukan pada suhu 50°C dan 65 rpm menggunakan *shaker*. Hidrolisat asam terbaik dicampur dengan larutan enzim selulase kompleks di dalam erlenmeyer 250 mL dengan volume total 50 mL. Perlakuan konsentrasi larutan enzim yaitu 0% (bahan baku dan tanpa enzim), 0% (hidrolisat asam terbaik dan tanpa enzim), 4%, 6%, dan 10% v/v serta perlakuan waktu 6, 12, 18, dan 24, jam. Hasil hidrolisis dianalisis gula pereduksi, gula total dan derajat polimerisasi. Rancangan percobaan seluruh parameter dilakukan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap dan dilanjutkan dengan uji Duncan untuk menentukan

pengaruh perlakuan terhadap parameter dan kondisi terbaik hidrolisis.

Fermentasi

Hidrolisat terbaik dipasteurisasi pada suhu 70°C selama 15 menit dan ditambahkan *S. cerevisiae*, urea dan NPK. Proses fermentasi dilakukan pada suhu 30°C selama 96 jam. Analisis kadar etanol dilakukan dengan distilasi dan densitometri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Tepung *E. cottonii*

Analisis uji proksimat bahan baku tepung *E. cottonii* hasil penelitian ini ditunjukkan pada Tabel 1. Dari analisis bahan baku diketahui bahwa kandungan terbesar dari *E. cottonii* adalah karbohidrat. Hal ini menunjukkan bahwa rumput laut *E. cottonii* layak digunakan sebagai bahan baku pada produksi bioetanol. Pada umumnya kandungan dalam rumput laut antara lain protein 15-20%, karbohidrat 20-30%, abu 20-35% dan fosfor serta fiber 20-40% (Sreevatsan, 2012).

Pada dasarnya kombinasi karbohidrat dapat ditemukan di dinding sel rumput laut, dan dalam banyak kasus masing-masing spesies memiliki komposisi karbohidrat yang unik bergantung pada jenis rumput laut tersebut. Untuk itu, perlu digarisbawahi bahwa rumput laut dapat dikatakan sebagai pabrik atau produsen energi karena banyaknya kandungan kimia organik. Hal ini yang menjadikan alasan pentingnya pemanfaatan rumput laut untuk energi (Wegeberg *et al.*, 2010). Tapi tidak seperti kebanyakan tanaman darat, rumput laut tidak memiliki karbohidrat sederhana atau polisakarida mudah terhidrolisa seperti pati. Menurut Kim *et al.* (2008) karbohidrat *E. cottonii* umumnya adalah galaktosa yang diderivatisasi dengan kelompok sulfat dan anhidro, dan sebagian kecil selulosa. Karakteristik struktural dari karbohidrat *E. cottonii* menunjukkan bahwa konversi biokimianya tidak mudah, karena sampai saat ini belum ada strain atau ragi yang dibuat industri mampu memfermentasikan karbohidrat rumput laut *E. cottonii*.

Tabel 1. Karakteristik bahan baku tepung *E. cottonii*

Komposisi Kimia	Hasil Penelitian % b/b	Hasil Penelitian Sebelumnya		
		Sreevatsan (2012) % b/b	Luthfy (1988) % b/b	Kim (2008) % b/b
Karbohidrat	66,64	20-30	68,48	43,4
Protein	6,35	15-20	2,80	4,9
Serat kasar	7,01	20-40	7,02	7,1
Lemak	1,26	-	1,78	
Abu	12,40	20-35	19,92	44,6
Air	6,34	-	-	-

Pengaruh Konsentrasi dan Waktu Hidrolisis Asam

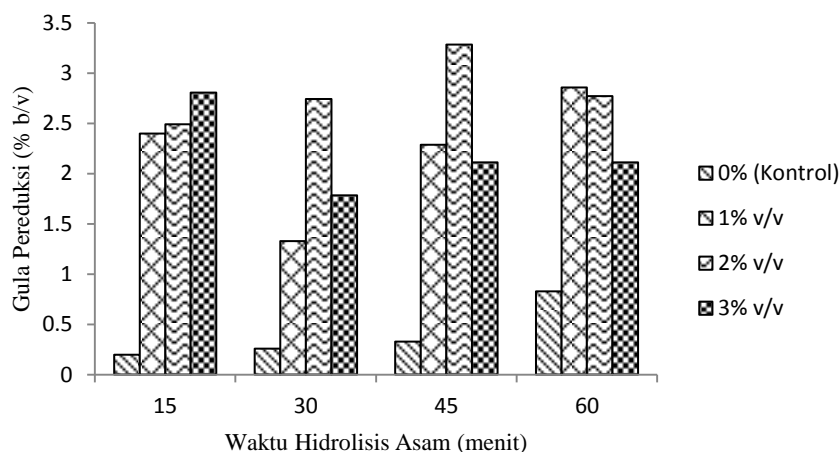
Hasil analisis gula pereduksi pada hidrolisis asam disajikan pada Gambar 1. Pada hasil analisis ragam dengan metode RAL faktorial pengaruh konsentrasi asam sulfat dan waktu hidrolisis terhadap pembentukan gula pereduksi pada *E. cottonii* menunjukkan bahwa hanya faktor konsentrasi yang sangat nyata pada tingkat kepercayaan 5%, dan tidak ada pengaruh interaksi pada perlakuan yang dicobakan.

Dari hasil uji lanjut Duncan, pengaruh faktor konsentrasi asam menunjukkan bahwa perbandingan rata-rata gula pereduksi antara konsentrasi asam 1%, 2% dan 3% terhadap kontrol (tanpa asam, 0%) berbeda nyata pada taraf 0,05; yang berarti penggunaan asam berpengaruh terhadap pembentukan gula pereduksi *E. cottonii*. Namun, pada perbandingan rata-rata gula pereduksi perlakuan asam 1%, 2% dan 3% memiliki hasil respon yang saling tidak berbeda nyata. Dengan demikian, penggunaan konsentrasi asam 1% akan lebih efisien dan efektif karena menghasilkan respon hasil yang relatif sama dengan konsentrasi asam yang lebih tinggi. Pemilihan kondisi terbaik hidrolisis *E. cottonii* dilakukan dengan melihat nilai gula pereduksi tertinggi yang dihasilkan yaitu pada kondisi hidrolisis dengan konsentrasi asam 2%, 45 menit sebesar 1,14% b/v. Variabel kedua ditentukan dari nilai gula pereduksi tertinggi kedua yaitu pada kondisi hidrolisis dengan konsentrasi asam 1%, 60 menit sebesar 0,56% b/v.

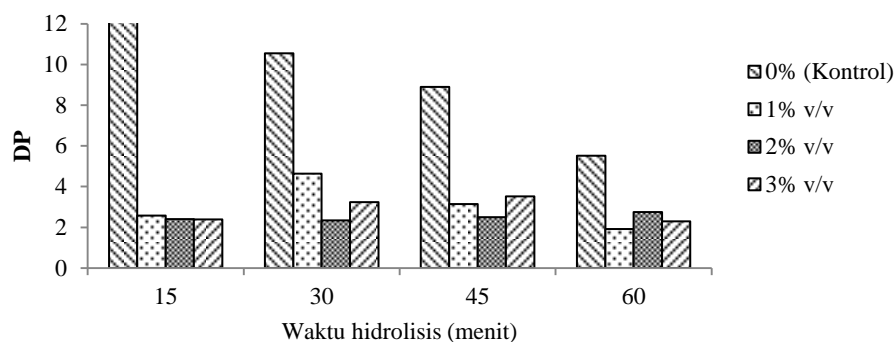
Penelusuran lebih lanjut pada Gambar 1 menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi asam 1% dan 3% pada waktu hidrolisis 30 menit dan konsentrasi H_2SO_4 2% v/v setelah waktu hidrolisis 45 menit terjadi penurunan gula pereduksi. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh konsentrasi asam yang lebih tinggi akan menghasilkan reaksi samping dan terbentuk produk samping HMF (5-Hydroxy-Methyl-Furfural) yang mengurangi jumlah gula pereduksi yang diinginkan. Hal tersebut di atas juga

dijelaskan oleh Kim *et al.* (2008) yang melakukan percobaan hidrolisis asam terhadap *gelidium amansii* pada suhu $150^\circ C$ dan waktu 15 menit menyatakan bahwa konsentrasi asam sulfat lebih tinggi dari 1% v/v menghasilkan gula pereduksi yang relatif sama, sedangkan percobaan dengan konsentrasi asam sulfat 0,5% v/v menghasilkan gula pereduksi paling rendah, percobaan tersebut dilakukan selama 4 jam. Selama rentang waktu tersebut, setelah 1 jam gula pereduksi menurun secara tajam. Meinita *et al.* (2012) juga menjelaskan bahwa pada hidrolisis H_2SO_4 0 – 1 M terhadap tepung *E. cottonii* menunjukkan hasil gula pereduksi tertinggi dengan konsentrasi H_2SO_4 0,2 M (1,07% v/v) pada suhu $130^\circ C$ dan waktu hidrolisis 15 menit. Peningkatan waktu hidrolisis lebih lama dari 15 menit menghasilkan penurunan gula pereduksi, galaktosa, dan etanol, diduga disebabkan oleh konsentrasi H_2SO_4 yang tinggi dan waktu reaksi yang lebih lama dapat menurunkan jumlah senyawa gula dan menghasilkan lebih banyak produk samping yang tidak diinginkan seperti HMF dan *levulinic acid* (Meinita *et al.*, 2012). Taherzadeh *et al.* (2011) menyatakan pada hidrolisis H_2SO_4 7% w/w terhadap rumput laut jenis *Nizimuddiniana zanardini* pembentukan produk samping furfural dan asam asetat meningkat jelas pada rentang waktu 30-45 menit. Konsentrasi asam asetat yang terbentuk setelah waktu hidrolisis 45 menit cenderung konstan, sedangkan furfural mencapai maksimum pada waktu 60 menit.

Derajat polimerisasi (DP) adalah jumlah total unit-unit struktur termasuk gugus fungsi, dan berhubungan dengan panjang rantai dan berat molekul. DP merupakan perbandingan antara total gula dengan gula pereduksi. DP dapat menunjukkan seberapa besar rantai polisakarida dapat dipecah menjadi monosakarida. Nilai DP yang kecil menunjukkan bahwa semakin banyak rantai polimer selulosa dan galaktan yang terputus sehingga dihasilkan senyawa-senyawa monosakarida dan oligosakarida.



Gambar 1. Kadar gula pereduksi pada berbagai konsentrasi asam sulfat (H_2SO_4) dan waktu hidrolisis *E. cottonii*



Gambar 2. Derajat polimerisasi *E. cottonii* terhadap perbedaan konsentrasi asam sulfat (H_2SO_4) dan waktu hidrolisis

Nilai DP hidrolisis asam tertinggi dihasilkan pada perlakuan asam 0% v/v (tanpa asam) pada setiap waktu hidrolisis yang berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah galaktan yang terhidrolisis menjadi senyawa-senyawa oligosakaridanya sangat sedikit, yang berarti hidrolisis belum terjadi sempurna. Derajat polimerisasi rata-rata yang dihasilkan dari hidrolisis asam dengan perlakuan asam 1% v/v, 2% v/v dan 3% v/v adalah 1,92 - 4,64 dengan nilai DP terkecil pada kondisi hidrolisis asam 1% v/v (Gambar 2).

Pemilihan hidrolisat asam terbaik yang dilanjutkan ke tahapan hidrolisis enzim yaitu hidrolisat dengan gula pereduksi tertinggi. Hidrolisis dengan konsentrasi asam 2% v/v, waktu 45 menit dengan gula pereduksi sebesar 3,28% b/v dan konsentrasi asam 1% v/v, waktu 60 menit dengan gula pereduksi sebesar 2,85% b/v. Derajat polimerisasi dengan nilai terkecil terdapat pada kondisi hidrolisis dengan konsentrasi asam 1% v/v, waktu 60 menit sebesar 1,92.

Pada proses hidrolisis asam, galaktan sulfat dikonversi menjadi oligosakarida (galaktosan) dan selulosa dikonversi menjadi glukosa. Perlakuan konsentrasi asam 0% dan 3% v/v pada waktu hidrolisis yang berbeda, tidak dapat memberikan hasil yang maksimal untuk mengkonversi tepung *E. cottonii* menjadi sirup gula yang akan digunakan sebagai substrat fermentasi untuk produksi bioetanol.

Pengaruh Konsentrasi dan Waktu Hidrolisis Enzim

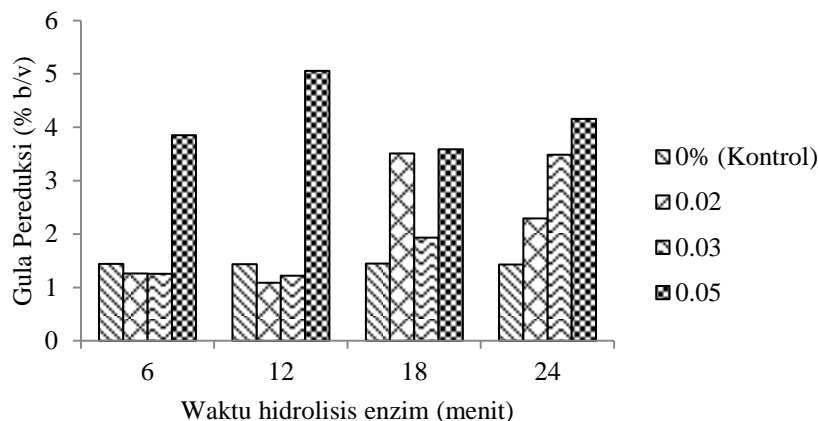
Gambar 3 dan Gambar 4 menunjukkan kadar gula pereduksi pada berbagai konsentrasi enzim selulase dan waktu hidrolisis terhadap hidrolisat asam. Pada hasil analisa ragam dengan metode RAL faktorial untuk larutan hidrolisat asam 1% v/v, 60 menit menunjukkan bahwa hanya faktor konsentrasi yang sangat nyata pada tingkat kepercayaan 1%, dan tidak ada pengaruh faktor waktu dan interaksi yang nyata. Walaupun pada Gambar 3 terlihat bahwa perlakuan konsentrasi enzim 5% v/v pada waktu hidrolisis enzim selama

12 jam memberikan rata-rata gula pereduksi yang paling besar jika dibandingkan dengan rata-rata gula pereduksi lainnya, namun jika dianalisis lebih lanjut kesimpulan itu menjadi tidak benar. Dari hasil uji lanjut Duncan diketahui bahwa faktor konsentrasi enzim 0% v/v, 2% v/v, 3% v/v dan 5% v/v memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata. Hal tersebut menunjukkan bahwa penggunaan enzim selulase pada hidrolisis larutan hidrolisat asam sulfat 1% v/v menghasilkan respons gula pereduksi yang relatif sama. Hal ini berarti penggunaan enzim selulase terhadap hidrolisat asam *E. cottonii* tidak memberikan hasil yang signifikan.

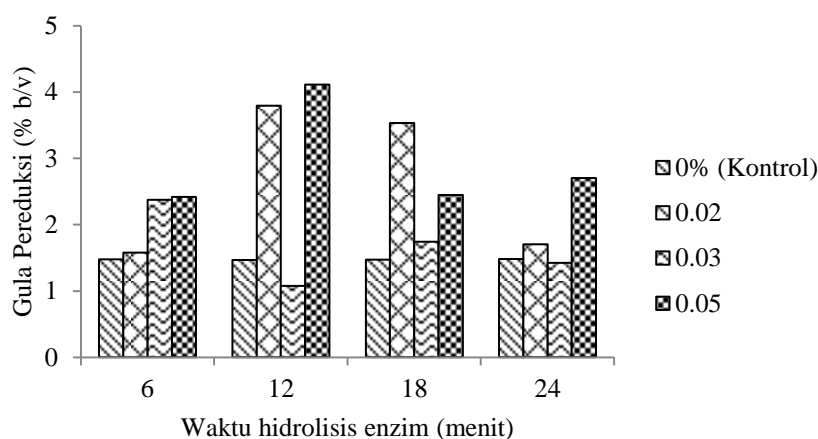
Hal tersebut di atas disebabkan oleh kurang efektifnya kerja enzim selulase memutus ikatan senyawa – senyawa oligosakarida galaktan menjadi galaktosa. Setyaningsih (2012) mengemukakan bahwa hidrolisis enzim *E. cottonii* menggunakan enzim selulase kompleks menghasilkan gula pereduksi yang rendah, karena komposisi enzim yang lebih sesuai untuk menghidrolisis lignoselulosa yaitu antara lain arabinosa, β glukosana, selulosa, hemiselulosa, pektinosa dan xylanosa.

Usov (1998) menyatakan bahwa hidrolisis enzim β -agarase terhadap polisakarida sulfat dari rumput laut merah *Polysiphonia morrowii* mampu mendapatkan 6% hidrolisat gula. Taherzadeh *et al.* (2011) menjelaskan dalam percobaan hidrolisis enzim selulase dan β -glukosidase ($45^\circ C$, pH 4,8 dan waktu 24 jam) terhadap sisa padatan rumput laut *Nizimuddiniana zanardini* yang telah dihidrolisis dengan H_2SO_4 7% w/w menunjukkan waktu hidrolisis enzim 24 jam menghasilkan gula pereduksi yang tertinggi di bandingkan dengan waktu hidrolisis 48 jam.

Hasil analisa sidik ragam untuk hidrolisis enzim terhadap hidrolisat asam 2% v/v, waktu 45 menit (Gambar 4) menunjukkan tidak ada faktor yang berpengaruh nyata terhadap respon gula pereduksi. Kondisi terbaik dari kedua larutan hidrolisat asam yang digunakan adalah pada konsentrasi enzim 5% v/v selama waktu hidrolisis 12 jam.



Gambar 3. Kadar gula pereduksi pada berbagai konsentrasi enzim selulase dan waktu hidrolisis terhadap hidrolisat asam 1% v/v *E. cottonii*.



Gambar 4. Kadar gula pereduksi pada berbagai konsentrasi enzim selulase dan waktu hidrolisis terhadap hidrolisat Asam 2% v/v *E. cottonii*

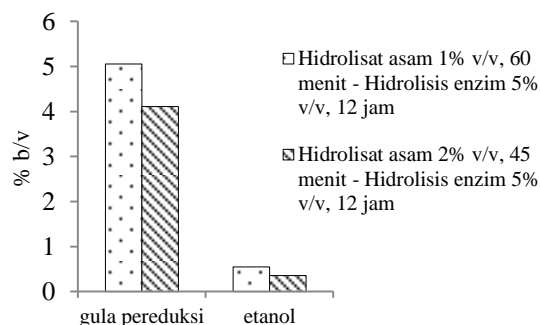
Dari keseluruhan analisis gula pereduksi yang dilakukan pada penelitian hidrolisis enzim terhadap hidrolisat asam 1%, 60 menit, maka pemilihan kondisi terbaik didasarkan pada rata-rata gula pereduksi yang dihasilkan paling tinggi yaitu pada kondisi konsentrasi enzim 5% v/v selama 12 jam sebesar 5,06% b/v.

Fermentasi

Dari hasil hidrolisis enzim diketahui bahwa pada konsentrasi H_2SO_4 1% v/v (Gambar 3) dan 2% v/v (Gambar 4) gula pereduksi terbaik yang dihasilkan adalah pada konsentrasi enzim 5% v/v dan waktu hidrolisis 12 jam. Kedua kondisi tersebut kemudian dilanjutkan ke tahapan selanjutnya yaitu proses fermentasi menggunakan khamir *Saccharomyces cerevisiae* selama 96 jam. Hasil fermentasi keduanya disajikan pada Gambar 5.

Proses fermentasi dilakukan dengan tujuan untuk menentukan kadar gula yang dapat di konversi menjadi etanol oleh khamir *Saccharomyces cerevisiae*, sehingga tidak dilakukan variabel penelitian waktu fermentasi. Dari percobaan ini, pada larutan asam 1% didapatkan efisiensi substrat

sebesar 86,97% dan efisiensi fermentasi 23,47% sedangkan pada larutan asam 2% besarnya efisiensi substrat adalah 81,96% dan efisiensi fermentasi 18,91%.



Gambar 5. Perbandingan konsentrasi gula pereduksi dan etanol hasil fermentasi

Dari Gambar 5 diketahui bahwa etanol yang dihasilkan pada fermentasi hidrolisis H_2SO_4 1% v/v, 60 menit dan hidrolisis enzim (5% v/v, 12 jam) sebesar 0,55% b/v lebih tinggi dibandingkan

dengan hidrolisis H_2SO_4 2% v/v, 45 menit dan hidrolisis enzim (5% v/v, 12 jam) sebesar 0,36% b/v. Hal tersebut juga disebabkan karena perolehan gula pereduksi yang lebih tinggi pada kondisi hidrolisis enzim dengan *pretreatment* asam sulfat 1% v/v.

Rendahnya produksi etanol juga bisa disebabkan karena *S. cerevisiae* yang tidak dapat mendegradasi galaktosa. Hal tersebut juga dikemukakan oleh Kim *et al.* (2011) yang mengemukakan fermentasi menggunakan *S. cerevisiae*, *E. coli* KO11 dan campuran keduanya terhadap gula pereduksi hasil hidrolisat asam-enzim *L. japonica* menggunakan fermentasi *S. cerevisiae* menghasilkan rendemen etanol yang rendah yaitu 7-9,8 g/L dibandingkan menggunakan *E. coli* KO11 atau campuran *S. Cerevisiae* dan *E. coli* KO11 yang jumlah rendemen etanolnya relatif sama yaitu sebesar 23-29 g/L. Khambathy *et al.* (2012) melakukan fermentasi hidrolisat asam *K. alvarezii* menggunakan *S. cerevisiae* dengan perlakuan penghilangan garam (*desalted*) terhadap gula pereduksi hasil hidrolisat dengan kadar gula pereduksi sebelum *desalted* 0,85% dan kadar gula pereduksi setelah *desalted* 4,32% menghasilkan etanol sebesar 2,06% setelah 72 jam proses fermentasi. Candra *et al.* (2011) menyatakan fermentasi terhadap hidrolisat asam 5% v/v *E. cottonii* menggunakan *S. cerevisiae* menghasilkan alkohol 0% pada waktu fermentasi 72 jam dan etanol maksimum diperoleh pada waktu fermentasi 168 jam yaitu 4,6%. Kumar *et al.* (2013) melakukan fermentasi terhadap hidrolisat alkali-enzim (*cellulose* dan *glucosidase*) *G. verrucosa* menggunakan *S. cerevisiae* menghasilkan etanol maksimum $14,89 \pm 0,24$ g/L selama 16 jam proses fermentasi.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Perlakuan terbaik proses hidrolisis asam terhadap *E. cottonii* ditentukan berdasarkan kandungan gula pereduksi tertinggi yaitu pada konsentrasi H_2SO_4 1% v/v dengan waktu hidrolisis 60 menit sebesar 2,85% b/v dan larutan asam H_2SO_4 2% v/v dengan waktu hidrolisis 45 menit sebesar 3,28% b/v. Perlakuan terbaik proses hidrolisis enzim selulase ditentukan berdasarkan kandungan gula pereduksi tertinggi yaitu hidrolisis enzim selulase 5% v/v selama 12 jam pada hidrolisat asam sulfat 1% v/v selama 60 menit dengan kadar gula pereduksi 5,0% b/v. Pada fermentasi hidrolisat *E. cottonii* menggunakan asam sulfat (1% v/v, 60 menit) dan enzim selulase (5% v/v, 12 jam) dengan ragi *S. cerevisiae* kadar etanol yang dihasilkan sebesar 0,55% b/v dan efisiensi fermentasi 23,47% b/v.

Saran

Total padatan yang dihasilkan dari proses penyaringan larutan hidrolisat asam perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan perlakuan enzim untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan penting rumput laut yang masih tertinggal yang dapat didegradasi menjadi gula sederhana, serta melakukan percobaan fermentasi dengan variasi inokulum yang sesuai dengan kandungan gula pereduksi (karbohidrat kompleks) yang terdapat dalam rumput laut *E. cottonii*.

DAFTAR PUSTAKA

- Candra KP, Sarwono, dan Sarinah. 2011 Study on bioethanol production using red seaweed *E. cottonii* from Bontang sea water. *J Coastal Develop.* 15: 45 – 50.
- Kim GS, Shin MK, Kim YJ, OH KK, Kim JS, Ryu HJ, Kim KH. 2008. Method of producing biofuel using sea algae. Patent, International Application Number: PCT/KR2008/001102.
- Kim JW dan Mazza G. 2011. Optimization of phosphoric acid catalyzed fractionation and enzymatic digestibility of flax shives. *J Ind Crops Prod.* 28(3): 346-355.
- Meinita MDN, Ji-Young K, Gwi-Taek J, Hyun MK, Sung MP, Yong-Ki H. 2012, Bioethanol production from the acid hydrolysate of the carrageenophyte *Kappaphycus alvarezii* (*cottonii*). *J Appl Phycol.* 24:857–862.
- Setyaningsih D, Windarwati S, Khayati I, Muna N, Hernowo P. 2012. Acid hydrolysis technique and yeast adaptation to increase red macroalgae bioethanol production. *J Environ and Bioen.* 3(2): 98-110.
- Sreevatsan S. 2012. *Citing Websites in Oilgae*. <http://www.oilgae.com/algae/comp> [18 Pebruari 2013].
- Taherzadeh MJ, Yazdani P, dan Karimi K. 2011. Improvement of enzymatic hydrolysis of a marine macro-alga by dilute acid hydrolysis pretreatment. World Renewable Energy Congress. Linköping, Sweden.
- Usov AI. 1998. Structural analysis of red seaweed galactans of agar and carrageenan groups. *J Food Hydrocoll.* 12:301–308.
- Wegeberg S dan Claus F. 2010. Algae biomass for bioenergy in denmark: Biological/ Technical Challenges And Opportunities. University of Copenhagen.